

- Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase mutation causes familial hemiplegic migraine type 2 with cerebellar signs. *Neurogenetics* 2004 ; 5 : 177-85.
- 17) Jurkat-Rott K, Freilinger T, Dreier JP, et al. Variability of familial hemiplegic migraine with novel A1A2 Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase variants. *Neurology* 2004 ; 62 : 1857-61.
- 18) Ambrosini A, D'Onofrio M, Grieco GS, et al. Familial basilar migraine associated with a new mutation in the ATP1A2 gene. *Neurology* 2005 ; 65 : 1826-8.
- 19) Dichgans M, Freilinger T, Eckstein G, et al. Mutation in the neuronal voltage-gated sodium channel SCN1A in familial hemiplegic migraine. *Lancet* 2005 ; 366 : 371-7.
- 20) Hanna MG. Genetic neurological channelopathies. *Nat Clin Pract Neurol* 2006 ; 2 : 252-63.
- 21) Van den Maagdenberg AM, Pietrobon D, Pizzorusso T, et al. A cacna1a knockin migraine mouse model with increased susceptibility to cortical spreading depression. *Neuron* 2004 ; 41 : 701-10.
- 22) Estevez M, Gardner KL. Update on the genetics of migraine. *Hum Genet* 2004 ; 114 : 225-35.
- 23) Davous P. CADASIL : a review with proposed diagnostic criteria. *Eur J Neurol* 1998 ; 5 : 219-33.
- 24) Uchino M, Hirano T, Uyama E, et al. Cerebral Autosomal Dominant Arteriopathy with Subcortical Infarcts and Leukoencephalopathy (CADASIL) and CADASIL-Like Disorders in Japan. *Ann NY Acad Sci* 2002 ; 977 : 273-8.
- 25) Joutel A, Corpechot C, Ducros A, et al. Notch3 mutations in CADASIL, a hereditary adult-onset condition causing stroke and dementia. *Nature* 1996 ; 383 : 707-10.
- 26) Jen J, Cohen AH, Yue Q, et al. Hereditary endotheliopathy with retinopathy, nephropathy, and stroke (HERNS). *Neurology* 1997 ; 49 : 1322-30.
- 27) Ophoff RA, DeYoung J, Service SK, et al. Hereditary vascular retinopathy, cerebrotretinal vasculopathy, and hereditary endotheliopathy with retinopathy, nephropathy, and stroke map to a single locus on chromosome 3p21.1-p21.3. *Am J Hum Genet* 2001 ; 69 : 447-53.
- 28) Berg J, Porteous M, Reinhardt D, et al. Hereditary haemorrhagic telangiectasia : a questionnaire based study to delineate the different phenotypes caused by endoglin and ALK1 mutations. *J Med Genet* 2003 ; 40 : 585-90.
- 29) Ishizaki K, Takeshima T, Fukuhara Y, et al. Increased plasma transforming growth factor-beta1 in migraine. *Headache* 2005 ; 45 : 1224-8.
- 30) Cole SG, Begbie ME, Wallace GM, et al. A new locus for hereditary haemorrhagic telangiectasia (HHT3) maps to chromosome 5. *J Med Genet* 2005 ; 42 : 577-82.

\* \* \*

## 特集 頭痛診療の進歩

# 頭痛発症に関与する遺伝子 (2) MTHFR遺伝子\*

● 古和久典\*\* / 安井建一\*\* / 中曾一裕\*\* / 竹島多賀夫\*\* / 中島健二\*\*

**Key Words** : homocysteine, migraine, aura, case-control association study

### はじめに

片頭痛は、原因遺伝子が明らかとなった家族性片麻痺性片頭痛などを除くと、一般の高血圧や糖尿病などと同様に、その発症には複数の遺伝的要因と環境要因が関与し、いわゆる多因子(遺伝)病と考えられている。多因子病としての片頭痛関連遺伝子の検討は大きく二つの方法で進められている。すなわち、候補遺伝子アプローチとマイクロサテライトマーカーを用いた網羅的解析である。

本稿では、候補遺伝子アプローチにより、われわれが初めて片頭痛との関連性を報告したメチレンテトラヒドロ葉酸還元酵素(MTHFR)遺伝子について概説する。

### MTHFRとMTHFR遺伝子多型

MTHFRは、生体内でメチル化が生じる際に働く経路のなかで5,10-methylenetetrahydrofolateを5-methyltetrahydrofolateに変換する酵素である。含硫アミノ酸代謝経路(図1)において、必須アミノ酸である食餌由来のメチオニンに再メチル化して保持することに働く<sup>1)</sup>。また、この代謝経

路では、葉酸、ビタミンB<sub>6</sub>、ビタミンB<sub>12</sub>が補因子として必要となる。ホモシステイン(homocysteine)は、中間代謝産物として存在する含硫アミノ酸の一つで、その代謝には、MTHFRのほかシスタチオニンβ合成酵素(CBS)、メチオニン合成酵素などが関与している<sup>1)</sup>。ホモシステイン尿症の原因として多いのはCBS欠損症である。

MTHFR遺伝子は染色体1p36に位置し、C677T、A1298T、C1711Tなどの複数の一塩基多型(single nucleotide polymorphism: SNP)が存在することが明らかにされている。中でももっともありふれた多型とされているC677T多型での酵素化学的研究や患者対照研究による検討が多くなされている。1995年Frosstら<sup>2)</sup>によりC677T多型は、MTHFR酵素活性と関係し、CC、CT、TT多型の順に酵素活性が低下すること(図2)や、46℃の条件下ではTT多型でより著明に酵素活性が低下すること、さらに、MTHFR活性の低下に伴い血漿ホモシステイン値が上昇すること(図2)により、TT多型と脳梗塞などの動脈硬化性疾患との有意な関連性を認めることが報告された。われわれも日本人においてMTHFR酵素活性と遺伝子多型との関連性をすでに検討し同様の結果となることを確認した<sup>3)</sup>。

MTHFR遺伝子多型が動脈硬化性疾患の関連遺伝子として働く病態機序としては、高ホモシス

\* Molecular genetics of headache syndromes. (2) MTHFR gene.

\*\* Hisanori KOWA, M.D., Ph.D., Kenichi YASUI, M.D., Ph.D., Kazuhiro NAKASO, M.D., Ph.D., Takao TAKESHIMA, M.D., Ph.D. & Kenji NAKASHIMA, M.D., Ph.D.: 鳥取大学医学部附属脳幹性疾患研究施設脳神経内科(〒683-8504 鳥取県米子市西町36-1); Department of Neurology, Institute of Neurological Sciences, Faculty of Medicine, Tottori University, Yonago, Tottori 683-8504, Japan.

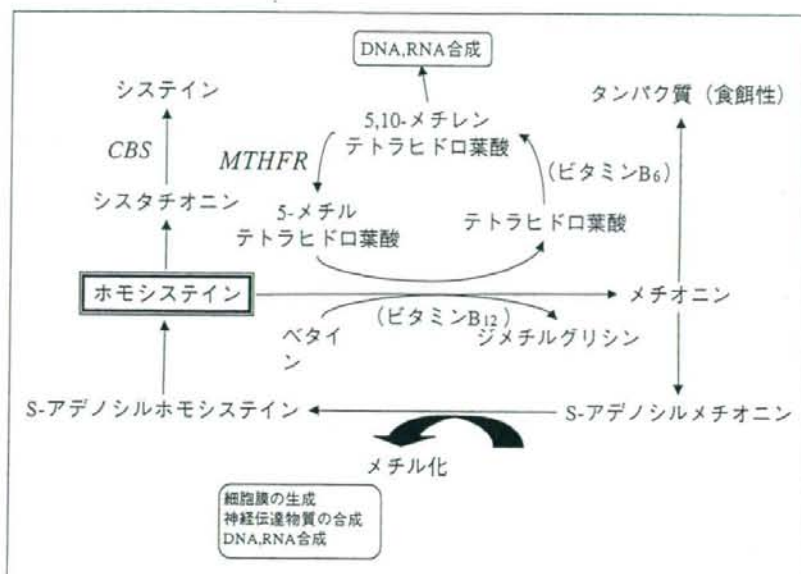


図1 含硫アミノ酸代謝経路

生体内でメチル化が生じる際に働く経路である。MTHFRは、ホモシステインを必須アミノ酸であるメチオニンへ再メチル化する系に働く葉酸依存性の酵素である。MTHFRの酵素活性が低下することにより軽度の高ホモシステイン血症をきたす。MTHFR:メチレンテトラヒドロ葉酸還元酵素, CBS:シスタチオニンβ合成酵素。(神経進歩 2004; 48: 715-25. より引用)

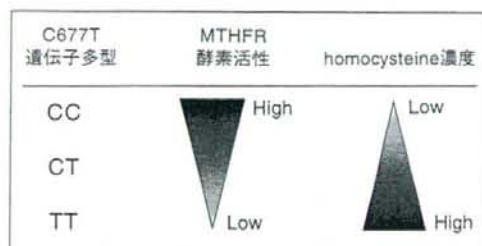


図2 MTHFR遺伝子C677T多型と血漿ホモシステイン濃度の関係(模式図)

CC, CT, TT多型の順に酵素活性が低下し、それに伴い血漿ホモシステイン値が上昇することが報告されている。

テイン血症と関連して血小板や血管内皮細胞の機能障害をきたすことなどが考えられているが、詳細は不明である。MTHFR遺伝子C677T多型による生体内での変化に関して、大腸菌より精製したMTHFRによる多型の検討では、677C>T変異部位はフラビン・アデニン・ジヌクレオチド(flavin adenine dinucleotide: FAD)結合ドメインに位置し、677T変異によりフラビン補因子の減少傾向を招くことにより酵素活性が低下すること、葉酸の補充によりフラビンの減少を保護す

表1 MTHFR677C-&gt;T多型との関連性が指摘されている疾患

Vascular disease	Down syndrome
Neural tube defects	Cancer
Cleft lip/palate	Depression
Preeclampsia	Schizophrenia
Thrombosis	Migraine with aura
Retinal artery occlusion	

Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM) より作成。

る可能性が報告されている<sup>4)</sup>。今後のさらなる解明が待たれる。

最近では、MTHFR遺伝子C677T多型は動脈硬化性疾患のみならず、悪性腫瘍や骨塩密度など幅広い領域の疾患や症候で患者対照研究がなされている。現在、Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM) に登録されている本多型との関連性が指摘されている疾患を表1に示す。

### ホモシステインと疾患

ホモシステインの関係する病態として、重度の高ホモシステイン血症を伴うホモシステイン尿

症と軽度の高ホモシステイン血症がある。

ホモシステイン尿症は先天性代謝異常症の一つで、新生児マススクリーニングの対象疾患にもなっている。頻度は1:19万人といわれ、重症高ホモシステイン血症をきたし、精神発達遅滞や白内障とともに血管内皮障害による血栓症や梗塞をきたすことが知られている。

ホモシステイン尿症とは異なり、正常上限(12~14nmol/ml程度)の5~6倍の軽度の高ホモシステイン血症が、成人における心筋梗塞、脳梗塞などの動脈硬化性疾患の危険因子となることが欧米の大規模疫学調査<sup>5)~7)</sup>の結果により明らかとなった。さらに、ホモシステイン代謝に関係する酵素遺伝子の検討から、先述するように軽度の高ホモシステイン血症とMTHFR遺伝子多型との関連性が多く報告されている。

#### 片頭痛におけるMTHFR遺伝子； われわれの検討結果

片頭痛は、その発症機序において脳血流の変化や血小板機能異常の関与などが報告されていることや、時には一過性あるいは持続的な神経脱落症状を随伴することなどより脳血管障害との関連性が以前から指摘されている。総説<sup>8)</sup>によると、若年性脳梗塞の10%が片頭痛の既往をもち、7%が片頭痛発作中に脳梗塞をきたし、また、片頭痛患者の4%で頭部CTで異常所見を伴っていたとされる。しかし、両者に共通した病態は明らかにされていない。

われわれは、心・脳血管障害の関連遺伝子と指摘されていたMTHFR遺伝子多型に着目し、片頭痛との関連性を検討した。その結果、前兆のある片頭痛(MA)において677TT多型頻度、677Tアレル頻度は、頭痛を有しない健常対照者(CTL)と比較して有意に高頻度を示すことを報告した(図3)<sup>9)</sup>。この報告では、片頭痛の症例数も少なかったことより、その後にMA 52例、前兆のない片頭痛(MO)118例、CTL 275例と症例数を蓄積して再検討を行った結果、CTLを基準としたMAのオッズ比は、TT遺伝子多型2.94、Tアレル1.85とともに有意であり、少なくとも日本人において、MTHFR遺伝子C677T多型はMAの関連遺伝子であることが明らかとなった。

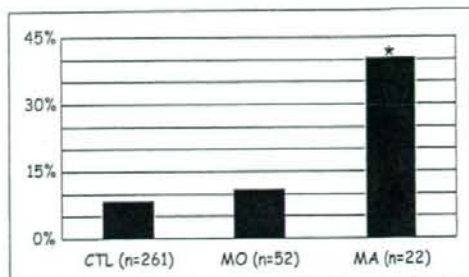


図3 MTHFR遺伝子677TT多型の頻度<sup>9)</sup>

\*:  $p < 0.01$  vs CTL. CTL: control, MA: migraine with aura, MO: migraine without aura.

片頭痛とMTHFRとの関連については、後述する高ホモシステイン血症による影響がもっとも有力な考え方であるが、詳細は不明である。以前から多数の検討により、片頭痛患者では自律神経機能障害を有することが報告されている<sup>10)~13)</sup>。MTHFRは、セロトニンやL-dopa、エピネフリンなどの神経伝達物質の生合成にも関与しており<sup>1)</sup>、遺伝子多型に基づく酵素活性の変化から自律神経機能に影響を及ぼし、片頭痛の臨床症状を修飾している可能性も考えられ、今後の検討が必要である。

#### 他施設からの報告

われわれの報告に続く形で、異なった地域、人種による検討が報告されている。概要を表2に示す。片頭痛、とくに前兆を伴う片頭痛との有意な関連性を示す報告<sup>14)~17)</sup>が多いが、関連を否定する報告も2報<sup>18)19)</sup>ある。Kaunistoらの検討<sup>19)</sup>では、多数例であるが双子研究登録症例が1/3を占めている点は慎重な対応が必要と思われる。さらに、西欧では二分脊椎の出生予防対策として葉酸強制添加政策が施行されており、今後、ホモシステイン、葉酸、ビタミンB<sub>12</sub>も含めた検討が必要と考えられる<sup>20)</sup>。

小児の片頭痛を対象とした報告<sup>21)</sup>では、MA 33例、MO 12例と例数が少なく統計学的に有意差は認められなかったが、677TT多型との関連性が示唆される傾向であった。

#### 片頭痛とホモシステイン

片頭痛とMTHFR遺伝子多型との関連性についての報告に比して、ホモシステインとの関連性

表2 片頭痛におけるMTHFR遺伝子C677T多型の検討報告

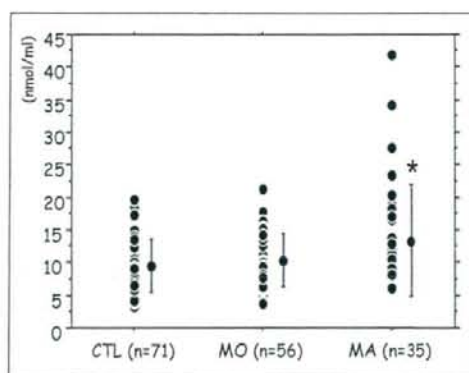
		Migraine		MA		Control			MA Odds(注1)		備考	
		case	case	T allele	TT genotype	case	T allele	TT genotype	T allele	TT genotype		
<b>&lt;POSITIVE&gt;</b>												
Kowa	Japan	hospital	74	22	0.64	40.9%	261	0.35	9.6%	3.3*	6.59*	
Kara	Turkey	hospital	102	23	0.26	4.3%	136	0.25	1.5%	1.04	3.05	(注2)
Oterino	Spain	hospital	230	78	0.42	18.0%	204	0.36	13.2%	1.75*	2.34*	(注3)
Lea	Australia	hospital	268	168	0.40	19%	269	0.33	9%	1.41*	2.54*	
		family-based	566	247	0.39	13%						
Scher	Netherlands	population	413	187	0.39	16%	1,212	0.315	10%	1.40*	2.05*	
<b>&lt;NEGATIVE&gt;</b>												
Todt	Germany	pain clinic	656	656	0.33	11.7%	625	0.358	11.8%	0.88	0.87	
Kaunisto	Finland	twin cohort +population	898	898	0.24	5%	900	0.24	6%	none	0.89	

関連のあるとした報告(POSITIVE)と、ないとした報告(NEGATIVE)を分けて作成した。

(注1)原則として、CTLに対するMAのodds比を示す。有意なものに\*を示す。(注2)片頭痛全体およびMOはCTLに対して有意であった。(注3)MAはMOに対して有意であったが、CTLとは有意でなかった。CTL: control, MA: migraine with aura, MO: migraine without aura, none: data unknown.

についての検討は少ない。われわれは、HPLC-ECD法を用いて<sup>22)</sup>、MA 35例、MO 56例、年齢を一致させたCTL 71例における血漿総ホモシステイン濃度を検討した。平均血漿濃度は、MA 13.1nmol/mlで、CTL 9.5nmol/ml、MO 9.4 nmol/mlの両群に比して有意に高値であった(図4)。遺伝子多型に分けた検討においては、MAのTT多型においてMAのCT多型を除く他の7群と比して有意に高値であった<sup>23)</sup>。

過去の臨床報告では、Eversら<sup>24)</sup>は、MA 17例、MO 45例を含む頭痛患者でホモシステイン、ビタミンB<sub>12</sub>、葉酸濃度を測定した。その結果、MAとCTL 18例との間では有意差は認められなかったが、MOと比較してMAは有意にホモシステイン濃度が高値であること、ビタミンB<sub>12</sub>、葉酸値に異常はなく、ホモシステイン値と相関関係がなかったと報告している。一方Schlesingerらは、MA 2例とMO 4例の全例でホモシステイン濃度は10nmol/ml以下の正常範囲であり、片頭痛の病態との関連性を否定している<sup>25)</sup>。しかし、CTLとの比較はなされていない。Hering-Hanitらは、

図4 血漿総ホモシステイン濃度<sup>23)</sup>

Barはmean±SEを示す。\*:  $p < 0.01$  vs CTL, MA (ANOVA, post hoc). CTL: control, MA: migraine with aura, MO: migraine without aura.

MA 22例を含む片頭痛患者78例とCTL 126例でホモシステイン値を比較し、その多くが正常範囲内であり、両群間で有意差がなかったと報告している<sup>26)</sup>が、MAとMOを分けた検討はなされていない。オランダの住民調査においては、MAとMTHFR遺伝子TT多型との有意な関連性は認めら

れたが、MAとホモシステイン値や葉酸、ビタミンB<sub>12</sub>との関連性は認められなかった。今後、この点に関しては、人種差も念頭に置いたさらなる検討が必要と思われる。

一方で、1/3の症例で片頭痛を伴うとされている家族性の特殊な脳梗塞である「皮質下梗塞と白質脳症を伴う常染色体優性遺伝性脳動脈症」(cerebral autosomal-dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy : CADASIL)<sup>27)</sup>65家系127症例を対象として、原因遺伝子の変異部位や白質病変に関連する脳血管障害危険因子と臨床症状との関連性をみた検討によると、*notch3*遺伝子変異部位と臨床症状の間には関連がなかったが、15 $\mu$ mol/l以上の高ホモシステイン値を呈した症例では、それ以下の症例に比して有意に片頭痛発作をきたしやすいこと、また、より早期に片頭痛発作を呈することが報告されている<sup>28)</sup>。CADASILと*MTHFR*遺伝子多型との関連性について大変興味をもたれるところである。

高ホモシステイン血症の片頭痛に関する病態機序は不明であるが、Storerら<sup>29)</sup>は、ネコ片頭痛モデルにおいてホモシステインの類縁物質であるホモシステイン酸が痛み侵襲を惹起し、エルゴタミンやトリプタン系薬物である5HT<sub>1B/1D</sub> agonistにより抑制されることを報告しており、片頭痛における神経細胞の興奮性との関与が示唆される。

### 今後の課題

一般に高ホモシステイン血症への対策とされている葉酸補充療法が片頭痛患者に対して有効か否かに関する検討はなされていない。その際に、葉酸のサプリメントと食事療法で効果が異なるのかも注意を要すると思われる。

先にも述べたが、一部の国や地域では葉酸強制添加政策が施行されており、葉酸強制添加後の片頭痛に関する疫学データの変化にも目を向けておく必要がある。

近年、片頭痛と脳梗塞との有意な関連性を指摘する報告も増えており、両者の共通した遺伝的背景因子としても注目される可能性があるものと考え<sup>30)</sup>。

### おわりに

メチレンテトラヒドロ葉酸還元酵素(*MTHFR*)遺伝子C677T多型は、片頭痛の単一原因遺伝子ではなく、多因子遺伝病としての関連遺伝子の一つである。現在、世界の多数の国から関連性を示唆されており、*MTHFR*遺伝子多型や高ホモシステイン血症が、片頭痛の病態機序にどのように関与するのかを解明することは、新たな治療法や予防法を検討するうえで重要な課題と考えられる。

### 文 献

- 1) Rosenblatt DS. Inherited disorders of folate transport and metabolism. In : Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, et al, editors. *The metabolic and molecular bases of inherited disease*. 7th ed. New York : McGraw-Hill, Inc ; 1995. p. 3111-28.
- 2) Frosst P, Blom HJ, Milos R, et al. A candidate genetic risk factor for vascular disease : a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nat Genet* 1995 ; 10 : 111-3.
- 3) Yasui K, Kowa H, Nakaso K, et al. Plasma homocysteine and *MTHFR* C677T genotype in levodopa-treated patients with PD. *Neurology* 2000 ; 55 : 437-40.
- 4) Guenther BD, Sheppard CA, Tran P, et al. The structure and properties of methylenetetrahydrofolate reductase from *Escherichia coli* suggest how folate ameliorates human hyperhomocysteinemia. *Nat Struct Biol* 1999 ; 6 : 359-65.
- 5) Stampfer MJ, Malinow MR, Willett WC, et al. A prospective study of plasma homocyst(e)ine and risk of myocardial infarction in US physicians. *JAMA* 1992 ; 268 : 877-81.
- 6) Verhoef P, Hennekens CH, Malinow MR, et al. A prospective study of plasma homocyst(e)ine and risk of ischemic stroke. *Stroke* 1994 ; 25 : 1924-30.
- 7) Bots ML, Launer LJ, Lindemans J, et al. Homocysteine and short-term risk of myocardial infarction and stroke in the elderly : the Rotterdam Study. *Arch Intern Med* 1999 ; 159 : 38-44.
- 8) Welch KMA, Tatemichi TK, Mohr JP. Migraine and

- stroke. In : Barnett HJM, Mohr JP, Stein BM, et al, editors. *Stroke, pathophysiology, diagnosis, and management*. 3rd ed. Philadelphia : Churchill Livingstone ; 1998. p. 845-67.
- 9) Kowa H, Yasui K, Takeshima T, et al. The homozygous C677T mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene is a genetic risk factor for migraine. *Am J Med Genet* 2000 ; 96 : 762-4.
  - 10) Takeshima T, Takao Y, Takahashi K. Pupillary sympathetic hypofunction and asymmetry in muscle contraction headache and migraine. *Cephalalgia* 1987 ; 7 : 257-62.
  - 11) Takeshima T, Takao Y, Urakami K, et al. Muscle contraction headache and migraine. Platelet activation and plasma norepinephrine during the cold pressor test. *Cephalalgia* 1989 ; 9 : 7-13.
  - 12) Takeshima T, Mishima T, Tabata M, et al. Acrophase amplitude of ambulatory blood pressure decreases in migraineurs. *Headache* 1997 ; 37 : 577-82.
  - 13) Tabata M, Takeshima T, Burioka N, et al. Cosinor analysis of heart rate variability in ambulatory migraineurs. *Headache* 2000 ; 40 : 457-63.
  - 14) Kara I, Sazci A, Ergul E, et al. Association of the C677T and A1298C polymorphisms in the 5,10 methylenetetrahydrofolate reductase gene in patients with migraine risk. *Brain Res* 2003 ; 111 : 84-90.
  - 15) Oterino A, Valle N, Bravo Y, et al. MTHFR T677 homozygosis influences the presence of aura in migraineurs. *Cephalalgia* 2004 ; 24 : 491-4.
  - 16) Lea RA, Ovcacic M, Sundholm J, et al. The methylenetetrahydrofolate reductase gene variant C677T influences susceptibility to migraine with aura. *BMC Med* 2004 ; 2 : 3.
  - 17) Scher AI, Terwindt GM, Verschuren WM, et al. Migraine and MTHFR C677T genotype in a population-based sample. *Ann Neurol* 2006 ; 59 : 372-5.
  - 18) Todt U, Freudenberg J, Goebel I, et al. MTHFR C677T polymorphism and migraine with aura. *Ann Neurol* 2006 ; 60 : 621-2.
  - 19) Kaunisto MA, Kallela M, Hamalainen E, et al. Testing of variants of the MTHFR and ESR1 genes in 1798 Finnish individuals fails to confirm the association with migraine with aura. *Cephalalgia* 2006 ; 26 : 1462-72.
  - 20) Scher AI, Terwindt GM, Verschuren WM, et al. Reply. *Ann Neurol* 2006 ; 60 : 622-3.
  - 21) Bottini F, Celle ME, Calevo MG, et al. Metabolic and genetic risk factors for migraine in children. *Cephalalgia* 2006 ; 26 : 731-7.
  - 22) 安井建一, 古和久典, 楠見公義, ほか. 片頭痛患者における血漿ホモシステイン濃度の検討. *日本頭痛学会誌* 2000 ; 27 : 21-3.
  - 23) Kowa H, Yasui K, Fusayasu E, et al. The C677T mutation of methylenetetrahydrofolate reductase gene and plasma homocysteine levels in Japanese patients with migraine [Abstract]. *Cephalalgia* 2005 ; 25 : 867.
  - 24) Evers S, Koch HG, Husstedt I-W. Plasma homocysteine levels in primary headache. In : Olesen J, Edvinsson L, editors. *Headache pathogenesis monoamines, neuropeptides, purines, and nitric oxide*. Philadelphia : Lippincott-Raven ; 1997. p.215-8.
  - 25) Schlesinger I, Hering R. Homocysteine levels in migraine patients. *Cephalalgia* 1997 ; 17 : 46.
  - 26) Hering-Hanit R, Gadoth N, Yavetz A, et al. Is blood homocysteine elevated in migraine? *Headache* 2001 ; 41 : 779-81.
  - 27) 古和久典, 足立芳樹, 土井浩二, ほか. CADASIL. *神経内科* 2006 ; 65 : 450-9.
  - 28) Singhal S, Bevan S, Barrick T, et al. The influence of genetic and cardiovascular risk factors on the CADASIL phenotype. *Brain* 2004 ; 127 : 2031-8.
  - 29) Storer RJ, Goadsby PJ. Microiontophoretic application of serotonin (5HT)1B/1D agonists inhibits trigeminal cell firing in the cat. *Brain* 1997 ; 120 : 2171-7.
  - 30) 古和久典, 竹島多賀夫, 中島健二. 片頭痛と脳梗塞～comorbidityの観点から. *内科専門医会誌* 2006 ; 18 : 318-22.

\* \* \*

## 頭痛の遺伝子研究の現状

鳥取大学医学部附属脳幹性疾患研究施設  
脳神経内科\*助教授, \*\*教授

たけしま たかお なかじまけんじ  
竹島多賀夫\* 中島健二\*\*

### ●はじめに

片頭痛は頭痛と悪心、嘔吐、光過敏、音過敏などの不愉快な随伴症状により、生活に支障を来す発作を慢性的に繰り返す疾患である。通常、生命を脅かすことはないが、繰り返す片頭痛発作により患者と家族の生活を破壊し、ひいては患者の人生を破壊する疾患である。国際頭痛学会の診断基準によって片頭痛診断が標準化され、神経科学、分子生物学の進歩と相まって片頭痛の遺伝子研究が進んでいる。

### ①家族性片麻痺性片頭痛 (FHM)

FHM (familial hemiplegic migraine) は前兆に運動障害(脱力)がみられ、第1度・第2度近親者の少なくとも1人に同様の発作がある<sup>1)</sup>。本邦の全国医療機関調査<sup>2)</sup>による有病率は人口10万人当たり0.1人であった。FHMの約半数の家系が染色体19p13に連鎖し、その大部分に小脳萎縮がみられる。

1996年にはP/Q-type  $Ca^{2+}$  channel  $\alpha 1$  subunit (CACNA1A) の点変異<sup>3)</sup>が同定された(FHM1: OMIM<sup>4)</sup> #141500)。FHM1では、典型的な前兆の症状以外に脳底型の症状を示すことが多く、発作時にはほぼ毎回頭痛がある。FHM1の28家系の遺伝子と臨床症状の検討では、変異を有する者の89%に片麻痺を伴う片頭痛発作があった。変異部位はT666Mの頻度が最も高く、小脳症状と相関した。また、約1/3の患者に昏睡や遷延性片麻痺、発熱、錯乱状態などを伴う激しい発作があった。重度の発作は通常の片頭痛の様相とは大きく異なっており、脳症

の範疇で捉えたほうが理解しやすい。軽度の頭部外傷やカテーテルを用いた脳血管撮影によって致死的な重度発作が誘発されることがある。しばしば、てんかんと誤診されている<sup>1)</sup>。本邦ではTakahashiら<sup>4)</sup>による3例、1家系のT666M変異の家系報告がある。

染色体1q21-q23に連鎖するFHM家系があり、2003年にはイタリアの大家系においてNa-K ATPase  $\alpha 2$  (ATP1A2 遺伝子)の変異が同定<sup>5)</sup>された(FHM2: OMIM #602481)。FHM2はてんかんと合併しやすいこと、小脳障害はまれであることなどが特徴である。2005年には2q24に連鎖するヨーロッパ家系の解析から、神経電位依存性ナトリウムチャンネル、SCN1A 遺伝子のヘテロ接合変異が確認され、FHM3 (OMIM #609634)の原因遺伝子と報告<sup>6)</sup>された。

イオンチャンネルの異常によりFHMが発症することから、channelopathyとして捉える考え方が有力となってきた。FHM1変異遺伝子を導入した動物モデルの検討で、小脳の神経細胞におけるCa電流の増加、神経筋接合部における神経伝達の促進、皮質拡張性抑制(cortical spreading depression; CSD)の閾値の低下と伝播速度の上昇などが報告されており、FHMにおける神経系の易興奮性を反映する所見と理解されている。

ATP1A2 遺伝子はATPを利用して細胞内のNaイオンと細胞外のKイオンを交換するチャンネル分子で、中枢神経系ではアストロサイトに豊富に存在している。ATP1A2 遺伝子の機能障害により、中枢神経系の細胞外K濃度が上昇し広範な大脳皮質の脱分極を促進し、また、細

<sup>4)</sup>OMIM: Johns Hopkins大学のMcKusick博士の「Mendelian Inheritance in Man」のオンライン版。



胞内の Na 濃度の上昇は Na/Ca 交換体を介して細胞内 Ca を増加させる可能性が推定されている<sup>9)</sup>。

### ②CADASIL

CADASIL (cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy, OMIM #125310) は若年から中年期発症の、大脳白質優位な再発性脳梗塞を来す常染色体優性遺伝疾患である。欧米の家系では片頭痛様頭痛を高頻度に合併することで有名で、約半数が片頭痛で発症し、経過と共に片麻痺、失調症などを来し、てんかん、認知機能障害も併発する。日本人の報告も集積されつつある<sup>7)</sup>。皮膚生検組織などにより、血管周囲の顆粒状オスミウム好性物質 (GOM; granular osmiophilic material) が証明できれば診断は確実である。Notch3 遺伝子の変異が同定されている。

### ③遺伝性出血性毛細血管拡張症 (HHT)

HHT (hereditary hemorrhagic telangiectasia, Osler-Weber-Rendu disease) は、繰り返す鼻出血、皮膚、粘膜の毛細血管拡張、肺、脳・脊髄、肝、消化管における動静脈瘻や動静脈奇形の発生を主要症候とする遺伝性疾患で、endoglin (HHT1: OMIM #187300) と、activin receptor-like kinase type I (ALK-1) (HHT2: OMIM #600376) の遺伝子異常が同定されている。半数近い患者が前兆のある片頭痛類似の頭痛を併発<sup>8)</sup>する。いずれも transforming growth factor (TGF)- $\beta$  のシグナル伝達に関与しており、片頭痛における TGF- $\beta$  の関与<sup>9)</sup>が注目されていることから興味もたれる。

### ④片頭痛と多因子遺伝

片頭痛の患者に家族歴があることは日常診療でよく経験するところである。配偶者や近親者の片頭痛罹患頻度の研究からも遺伝的要因の関与が示されている。患者対照相関解析において、

片頭痛がない集団より頻度が高い対立遺伝子 (アリル) が存在する遺伝子を疾患感受性遺伝子という。通常の片頭痛は多因子遺伝と推測され、疾患感受性遺伝子が検討されている。個々の患者におけるおのおののアリル解析結果の解釈には注意が必要で、アリルをもっているも必ずしも発症するわけではない。

### ⑤セロトニン、ドパミン関連遺伝子

片頭痛の病態にセロトニン (5-hydroxytryptamine; 5-HT) が関与していることから、5-HT<sub>1B</sub>, 1D, 2A 受容体遺伝子マーカーや 5-HT<sub>2C</sub> 受容体多型などが検討されているが、必ずしも一定の結果が得られていない。セロトニントランスポーター遺伝子 (5-HTTLPR) の VNTR 多型やトリプトファン水酸化酵素遺伝子多型と有意に相関があったとの報告もある。また、片頭痛とドパミン系の関係も注目されており、ドパミン受容体 (DRD2) 遺伝子多型が検討されたが、有意な相関があるとの報告と否定的な報告がある。最近、ドパミン  $\beta$ -ヒドロキシラーゼ遺伝子の挿入/欠失多型が有意に相関すると報告されている。

### ⑥メチレンテトラヒドロ葉酸還元酵素 (MTHFR) 遺伝子

MTHFR (methylene-tetrahydrofolate reductase) はホモシステイン代謝にかかわる酵素で C677T 多型が知られている。T 変異により血中ホモシステインが有意に上昇し、T/T ホモ接合型では冠動脈疾患、脳血管障害の危険因子となることが注目されてきた。日本人の検討<sup>10)</sup>では T/T の頻度が有意に高く、MTHFR 遺伝子は片頭痛感受性遺伝子であると結論された。その後、海外からも各地域の検体で同様の結果が相次いで報告されており注目されている。

### ⑦その他の遺伝子

アンジオテンシン変換酵素 (angiotensin converting enzyme; ACE) 遺伝子の Alu 反復配

列多型が片頭痛の遺伝的危険因子<sup>11)</sup>として注目されている。血管収縮物質エンドセリンの受容体 (ET-A) 遺伝子多型との相関、FHM1 の CACNA 遺伝子付近のインスリン受容体遺伝子 (19p13.3/2) が相関したとの報告、炎症性サイトカインの 1 つ tumor necrosis factor (TNF)- $\alpha$  の 308 G/A 多型が相関するとの報告や、haemochromatosis (HFE) 遺伝子多型が片頭痛の発作頻度と相関したとの報告などがある。

### ⑧ゲノムワイドスキャン

全ゲノムをスキャンして遺伝子座を探索する試みも進んでいる。Wessman ら<sup>12)</sup>は全ゲノムの連鎖解析により、4q24 に前兆のある片頭痛の遺伝子座の存在を見出した (*MGR1*, Finland 研究)。このほか、Xq24-q28 (*MGR2*), 6p21.1-p12.2 (*MGR3*), 14q21.2-q22.3 (*MGR4*), 19p13 (*MGR5*), 1q31 (*MGR6*) などが報告されている。

### ●おわりに

FHM の原因遺伝子の同定にみられるように、特殊な片頭痛を伴う遺伝性疾患を対象とした遺伝子研究が進んでいる。片頭痛と他の特徴的な症候を伴う家族性疾患を注意深い臨床的観察によって症候群として分離し、遺伝子の検索が進められており、今後も新しい遺伝子が同定されていくものと思われる。また、特殊な片頭痛性疾患における知見から、通常の片頭痛に関連する遺伝子の検討も進められている。また、病態生理や共存症から推定される候補遺伝子の探索に加え、すべての遺伝子を包括的にスキャンする手法など、神経科学技術の進展に伴い多くの知見が蓄積されつつある。

### 文 献

1) 国際頭痛学会・頭痛分類委員会：国際頭痛分類第 2 版

- (ICHD-II). 日頭痛会誌 2004; 31 (1): 1-188.
- 2) Takeshima T, Fusayasu E, Kusumi M, et al: Epidemiology of hemiplegic migraine in Japan: an interim report of the nationwide survey. *Cephalalgia* 2005; 25: 852.
  - 3) Ophoff RA, Terwindt GM, Vergouwe MN, et al: Familial hemiplegic migraine and episodic ataxia type-2 are caused by mutations in the Ca<sup>2+</sup> channel gene CACNL1A4. *Cell* 1996; 87: 543-552.
  - 4) Takahashi T, Igarashi S, Kimura T, et al: Japanese cases of familial hemiplegic migraine with cerebellar ataxia carrying a T666M mutation in the CACNA1A gene. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2002; 72: 676-677.
  - 5) De Fusco M, Marconi R, Silvestri L, et al: Haploinsufficiency of ATP1A2 encoding the Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> pump alpha2 subunit associated with familial hemiplegic migraine type 2. *Nat Genet* 2003; 33: 192-196.
  - 6) Dichgans M, Freilinger T, Eckstein G, et al: Mutation in the neuronal voltage-gated sodium channel SCN1A in familial hemiplegic migraine. *Lancet* 2005; 366: 371-377.
  - 7) Uchino M, Hirano T, Uyama E, et al: Cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy (CADASIL) and CADASIL-like disorders in Japan. *Ann NY Acad Sci* 2002; 977: 273-278.
  - 8) Berg J, Porteous M, Reinhardt D, et al: Hereditary haemorrhagic telangiectasia: a questionnaire based study to delineate the different phenotypes caused by endoglin and ALK1 mutations. *J Med Genet* 2003; 40: 585-590.
  - 9) Ishizaki K, Takeshima T, Fukuhara Y, et al: Increased plasma transforming growth factor-beta1 in migraine. *Headache* 2005; 45: 1224-1228.
  - 10) Kowa H, Yasui K, Takeshima T, et al: The homozygous C677T mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene is a genetic risk factor for migraine. *Am J Med Genet* 2000; 96: 762-764.
  - 11) Kowa H, Fusayasu E, Ijiri T, et al: Association of the insertion/deletion polymorphism of the angiotensin I-converting enzyme gene in patients of migraine with aura. *Neurosci Lett* 2005; 374: 129-131.
  - 12) Wessman M, Kallela M, Kaunisto MA, et al: A susceptibility locus for migraine with aura, on chromosome 4q24. *Am J Hum Genet* 2002; 70: 652-662.

## ＜解説＞

## 慢性片頭痛と薬物乱用頭痛の付録診断基準の追加について

竹島多賀夫<sup>1)</sup> 間中 信也<sup>2)</sup> 五十嵐久佳<sup>3)</sup> 平田 幸一<sup>4)</sup>  
坂井 文彦<sup>5)</sup> 日本頭痛学会・新国際頭痛分類普及委員会

(日本頭痛学会誌, 34: 192-193, 2007)

Key words: 慢性連日性頭痛, 鎮痛薬, 国際頭痛分類, 頭痛学会, MOH

国際頭痛学会は2004年にThe International Classification of Headache Disorders 2nd Edition (ICHD-II)<sup>1)</sup>として国際頭痛分類と診断基準第2版を公開した。同年, 日本頭痛学会の新国際分類普及委員会と厚生労働科学研究班が中心となって, 日本語版<sup>2)</sup>を作成し公開した。ICHD-IIの第1版からの重要な変更点のひとつが慢性片頭痛 (chronic migraine, CM) の導入とこれに連動する形での薬物乱用頭痛 (Medication overuse headache, MOH) の診断基準の採用であった。CMは薬物乱用が無いことが前提でありMOHの診断には乱用薬物の中止により頭痛が軽減することを確認することが要件となっている。

2006年6月に発刊された国際頭痛学会誌Cephalalgiaに国際頭痛学会頭痛分類委員会から, CMの概念を拡張する新しい基準がappendix (付録)として公表された<sup>3)</sup>。新しいCMの付録診断基準(表1)とMOHの付録基準(表2)が示されている。

CMの新付録基準のポイントは, トリプタンやエルゴタミ

ンが有効な症例は, 現在の頭痛の性状が必ずしも片頭痛の特徴を示さなくともよいとした点である。ただし, 少なくとも過去には前兆のない片頭痛の診断基準を満たす頭痛を持っていることが必須である。これは, 純粋な緊張型頭痛にトリプタンは無効であるが, 片頭痛患者においては, 彼らの緊張型頭痛の診断基準をみたら頭痛発作にもトリプタンがかなり有効であるとの研究成果なども論拠となっている。

MOHの新付録基準のポイントは薬物乱用があれば診断できることとし, 中止による頭痛の改善を要件としなくなった点である。3ヵ月以上にわたる薬物乱用があって, 新たに頭痛が出現するか, 元々の頭痛が著明に悪化した場合にMOHとする。

連日性の頭痛は頭痛診療上, 重要な問題であり, しばしば治療に難渋する。ICHD-IIでは慢性連日性頭痛 (chronic daily headache, CDH)の用語および概念は採用されなかった。Silbersteinら<sup>4)</sup>が提唱しているCDHの概念は, 反復性 (episodic) におこる片頭痛が慢性化する変容片頭痛と慢性緊張型

表1 慢性片頭痛の改訂基準

付録 A1.5.1 慢性片頭痛 (Appendix 1.5.1 Chronic migraine)

- A. 頭痛 (緊張型または片頭痛あるいはその両方) が月に15日以上頻度で3ヵ月を超えて続く\*  
B. 1.1 前兆のない片頭痛の診断基準をみたら頭痛発作を少なくとも5回は経験している患者におこった頭痛。  
C. 少なくとも3ヵ月にわたり, 次のC1またはC2あるいはその両方を満たす頭痛が月に8日以上ある。すなわち, 前兆のない片頭痛の痛みの特徴と随伴症状がある。  
1. 以下のa~dのうちの少なくとも2つを満たす。  
(a) 片側性  
(b) 拍動性  
(c) 痛みの程度は中程度または重度  
(d) 日常的な動作 (歩行や階段昇降など) により頭痛が増悪する, あるいは頭痛のために日常的な動作を避ける。  
そして, 以下のaまたはbの少なくともひとつ。  
(a) 悪心または嘔吐 (あるいはその両方)  
(b) 光過敏および音過敏  
2. 上記C1の頭痛発作に進展することが推定される場合にトリプタン又はエルゴタミン製剤による治療により頭痛が軽減する。  
D. 薬物乱用が存在せず<sup>†</sup>, かつ, 他の疾患によらない<sup>‡</sup>。

\*頻繁におこる頭痛の特徴を明確にするためには, 通常, 少なくとも1ヶ月は日々の頭痛と随伴症状の性状を記録する頭痛ダイアリーをつける必要がある。ダイアリーのサンプルはWebから入手できる (<http://www.i-h-s.org>) (訳注: ダイアリーの日本語版サンプルは日本頭痛学会のWeb (<http://www.jhsnet.org>) から入手できる。)

<sup>†</sup>薬物乱用は82薬物乱用頭痛の項に従って定義される。

<sup>‡</sup>病歴および身体所見・神経所見より頭痛分類5~12を否定できる, または, 病歴あるいは身体所見・神経所見よりこれらの疾患が疑われるが, 適切な検査により除外できる, または, これらの疾患が存在しても, 初発時の発作と当該疾患とは時間的に一致しない。

<sup>1)</sup>鳥取大学医学部附属脳幹性疾患研究施設・脳神経内科 [〒683-8504 鳥取県米子市西町 36-1]

<sup>2)</sup>温知会・間中病院

<sup>3)</sup>神奈川歯科大学附属横浜クリニック 内科学講座

<sup>4)</sup>獨協医科大学・神経内科

<sup>5)</sup>北里大学医学部・神経内科

表2 薬物乱用頭痛の改訂基準

付録 A8.2 薬物乱用頭痛の診断基準 (Appendix 8.2 Medication overuse headache Diagnostic criteria: )
A. 頭痛は1ヵ月に15日以上存在する。
B. 8.2のサブフォームで規定される1種類以上の急性期・対症的治療薬を3ヵ月を超えて定期的に乱用している
1. 3ヵ月を超えて、定期的に1ヵ月に10日以上エルゴタミン、トリプタン、オピオイド、または複合鎮痛薬を使用している。
2. 単一成分の鎮痛薬、あるいは、単一では乱用には該当しないエルゴタミン、トリプタン、オピオイドのいずれかの組み合わせで合計月に15日以上頻度で3ヵ月を超えて使用している。
C. 頭痛は薬物乱用により発現したか、著明に悪化している。

頭痛が主要なサブカテゴリで、その他、比較的稀であるが持続性片側頭痛と新規発症持続性連日性頭痛からなり、薬物乱用を伴うものと伴わないものにさらに細分されていた。CDHの用語はしばしば、CMや変容片頭痛とはほぼ同義にも使用されてきた。SilbersteinのCDHの概念は日常臨床で広く使用されているが、メカニズムや頭痛発作のタイプを元に分類するICHD-IIの分類方針とはなじまない点があることも指摘されており、ICHD-IIでは前述のような基準が採択された。しかしながら、ICHD-IIの基準を実際に使用してみると、CMの診断基準を満たす患者はきわめて稀であり、慢性的な片頭痛様の頭痛でも、診断基準上は慢性緊張型頭痛と分類せざるをえないケースがあると思われる。またMOHは薬物乱用がある時点では「MOHの疑い」と診断し、中止により頭痛が改善してはじめてMOHと診断される。確定診断がなされた時点ではMOH自体は消失しているのに、「MOHに罹患していた患者」はいるが、「MOHに罹患している患者」はいないという奇異な状況があった。このような観点からこれまで多くの批判や議論がなされてきたわけであるが、これらをあまえて今回の付録基準が公開されたものである。なお、複数の急性期治療薬の組み合わせによる薬物乱用頭痛(#8.2.6)は乱用日数

の基準が15日であったものが、2005年の改訂<sup>1)</sup>で10日に変更されたが、2006年3月には訂正が掲載され(Cephalalgia 26(3), 360, 2006)15日と記されている。今回の付録基準でも15日と記載されている。

これらの新基準はICHD-IIの付録として追加されており、すなわちこれらは将来の科学的評価のために試験的に使用されるということの意味するが、薬剤の試験などの研究デザインに組み込んで使用することも可能であると推奨している。この付録診断基準の有用性が明確に示されれば、2010年頃に予定されているICHD-IIの改訂版で正式な基準として採用されるものと考えられる。本邦の頭痛診療に携わる方々にとっても、CMとMOHの新しい付録基準の情報は重要かつ有用と思われるここに解説した。

## 文 献

- 1) Headache Classification Subcommittee of the International Headache Society: The International Classification Of Headache Disorders: 2nd Edition. Cephalalgia 24 (suppl 1): 1-160, 2004.
- 2) 国際頭痛分類第2版日本語版. 日本頭痛学会誌 31: 13-188, 2004.
- 3) Olesen J, Boussier MG, Diener HC, et al.: New appendix criteria open for a broader concept of chronic migraine. Cephalalgia 26: 742-746, 2006.
- 4) Silberstein SD, Lipton RB, Sliwinski M: Classification of daily and near-daily headaches: Field trial of revised IHS criteria. Neurology 47: 871-875, 1996.
- 5) Silberstein SD, Olesen J, Boussier MG, et al.: The International Classification of Headache Disorders, 2nd Edition (ICHD-II)—revision of criteria for 8.2 Medication—overuse headache. Cephalalgia 25: 460-465, 2005.

## New appendix criteria for chronic migraine and medication overuse headache: a commentary

Takao Takeshima<sup>1)</sup>, Shinya Manaka<sup>2)</sup>, Hisaka Igarashi<sup>3)</sup>, Koichi Hirata<sup>4)</sup>, Fumihiko Sakai<sup>5)</sup>,  
for Japanese Headache Society, ad hoc committee for ICHD-II

<sup>1)</sup>Department of Neurology, Institute of Neurological Sciences, Tottori University Faculty of Medicine

<sup>2)</sup>Manaka Hospital

<sup>3)</sup>Department of Internal Medicine, Yokohama Medical and Dental Clinic, Kanagawa Dental College

<sup>4)</sup>Department of Neurology, Dokkyo University School of Medicine

<sup>5)</sup>Department of Neurology, Kitasato University

**Key words:** Chronic daily headache, analgesics, ICHD-II, Japanese Headache Society, MOH

## MTHFR 遺伝子と片頭痛

古和 久典 安井 健一 中曾 一裕 竹島多賀夫 中島 健二

(日本頭痛学会誌, 34:156-160, 2007)

Key words: ホモシステイン, 前兆のある片頭痛, 疾患対照研究, 遺伝子多型

## はじめに

家系内集積性や双子研究の結果からは、片頭痛において遺伝性の関与が示唆されている。前兆のない片頭痛では遺伝因子と環境因子の関与が、前兆のある片頭痛ではより強く遺伝因子の関与が報告<sup>1)</sup>されている。

片頭痛に関する原因遺伝子の研究は、片頭痛の特殊な亜型である家族性片麻痺性片頭痛 (familial hemiplegic migraine: FHM) の解析に端を発し、染色体 19p13 に位置する FHM1 (CACNA1A 遺伝子)、染色体 1q23 に位置する FHM2 (ATP1A2 遺伝子)、染色体 2q24 に位置する FHM3 (SCN1A) が明らかとなっている。いずれの遺伝子も細胞膜のチャネル機能に関与し、神経細胞の興奮性と片頭痛の病態との関連性が示唆されている。しかし、いわゆる一般の片頭痛において、FHM の各遺伝子異常の関与はいまだに見出されていない。一般の片頭痛の発症には複数の遺伝的要因と環境要因が関与し、一般の高血圧や糖尿病などと同様に、いわゆる多因子 (遺伝) 病と考えられている。

多因子病としての片頭痛関連遺伝子の検討は、大きく二つの方法で進められている。すなわち、候補遺伝子アプローチとマイクロサテライトマーカーを用いた網羅的解析である。本稿は、候補遺伝子アプローチにより、われわれがはじめて片頭痛との関連性を報告したメチレンテトラヒドロ葉酸還元酵素 (MTHFR) 遺伝子について、以前の総説<sup>2)</sup>に最新の知見を加筆したものである。

## MTHFR と MTHFR 遺伝子多型

MTHFR は、5,10-methylenetetrahydrofolate を 5-methyltetrahydrofolate に変換する酵素で、生体のなかでメチル化が生じる際に働く経路内に位置する。MTHFR は、含硫アミノ酸代謝経路 (図 1) において、必須アミノ酸である食餌由来のメチオニンを再メチル化して保持するために働く酵素である<sup>3)</sup>。また、この代謝経路では、葉酸、ビタミン B<sub>6</sub>、ビタミン B<sub>12</sub> が補因子として必要である。中間代謝産物として存在するホモシステイン (homocysteine) は、含硫アミノ酸のひとつで、その代謝には、MTHFR のほか、シスタチオン β 合成酵素 (CBS)、メチオニン合成酵素などが関与している<sup>3)</sup>。新生児マススクリーニングの対象疾患の一つであるホモシステイン尿症の原因として一般に多いのは、CBS 欠損症である。

MTHFR 遺伝子は、第 1 番染色体短腕 (1p36) に位置し、

現在までに C677T, A1298T, C1711T などの複数の一塩基多型 (single nucleotide polymorphism: SNP) が存在することが明らかにされている。中で最もありふれた多型とされている C677T 多型では、酵素化学的研究や患者対照研究による検討が多くなされている。1995 年 Frosst ら<sup>4)</sup>により C677T 多型は、MTHFR 酵素活性と関係し、CC, CT, TT 多型の順に酵素活性が低下すること (図 2) や、46°C の条件下では 37°C に比して TT 多型で著明に酵素活性が低下すること、さらに、MTHFR 活性の低下に伴い血漿ホモシステイン値が上昇すること (図 2)、TT 多型による血漿ホモシステイン値の上昇と脳梗塞などの動脈硬化性疾患との有意な関連性を認めることが報告された。その後多くの追試がなされており、われわれも日本人において MTHFR 酵素活性と遺伝子多型との関連性を検討し同様の結果となることをすでに確認した<sup>5)</sup>。

MTHFR 遺伝子多型が、動脈硬化性疾患の関連遺伝子として働く病態視序としては、高ホモシステイン血症と関連して血小板凝集能の亢進や血管内皮細胞の機能障害、凝固系因子の機能促進や線溶系因子の阻害をきたすことなどが考えられているが詳細はいまだ不明である。MTHFR 遺伝子 C677T 多型による生体内での変化に関して、大腸菌より精製した

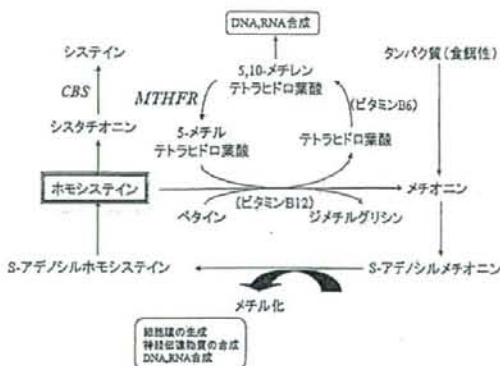


図 1 含硫アミノ酸代謝経路 (神経進歩 48 (5): 715-725, 2004 より引用)

生体内でメチル化が生じる際に働く経路である。MTHFR は、ホモシステインを必須アミノ酸であるメチオニンへ再メチル化する系に働く葉酸依存性の酵素である。MTHFR の酵素活性が低下することにより軽度の高ホモシステイン血症を来す。

MTHFR: メチレンテトラヒドロ葉酸還元酵素  
CBS: シスタチオン β 合成酵素

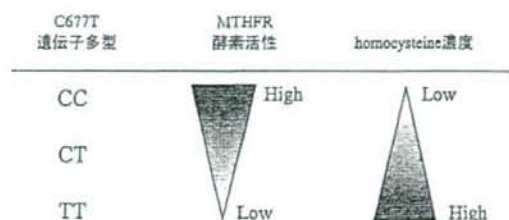


図2 MTHFR 遺伝子 C677T 多型と血漿ホモシステイン濃度の関係 (模式図)

CC, CT, TT 多型の順に酵素活性が低下し、それに伴い血漿ホモシステイン値が上昇することが報告されている。

表1 MTHFR677C>T 多型との関連性が指摘されている疾患

Vascular disease
Neural tube defects
Cleft lip/plate
Preeclampsia
Thrombosis
Retinal artery occlusion
Down syndrome
Cancer
Depression
Schizophrenia
Migraine with aura

Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM) より作成

MTHFR による多型の検討では、677C>T 変異部位は、フラビン・アデニン・シヌクレオチド (flavin adenine dinucleotide: FAD) 結合ドメインに位置し、677T 変異によりフラビン補因子の減少傾向を招くことにより酵素活性が低下すること、葉酸の補充によりフラビンの減少を保護する可能性が報告されている<sup>9</sup>。今後の更なる説明が待たれる。

最近では、MTHFR 遺伝子 C677T 多型は動脈硬化性疾患のみならず、悪性腫瘍や骨密度など幅広い領域の疾患や症候で患者対照研究がなされている。現在、Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM) に登録されている本多型との関連性が指摘されている疾患を表1に示す。

#### ホモシステインと疾患

ホモシステインの関係する病態として、重度の高ホモシステイン血症を伴うホモシステイン尿症と、軽度の高ホモシステイン血症がある。

ホモシステイン尿症は、先天性代謝異常症のひとつで、先述したように新生児マススクリーニングの対象疾患にもなっている。頻度は1:19万人といわれ、ホモシステイン尿症とともに重症高ホモシステイン血症を来し、精神発達遅滞や白内障とともに血管内皮障害による血栓症や梗塞を来することが知られている。

ホモシステイン尿症とは異なり、正常上限 (12~14nmol/ml 程度) の5~6倍の軽度の高ホモシステイン血症が、成人にお

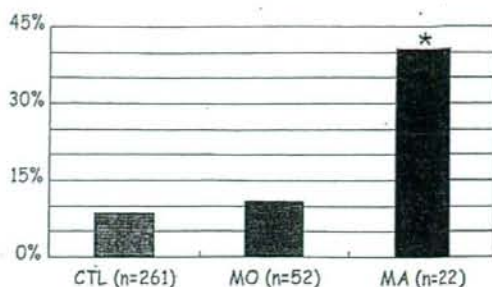


図3 MTHFR 遺伝子 677T 多型の頻度<sup>11)</sup>

\*:  $p < 0.01$  vs CTL

CTL: control

MA: migraine with aura

MO: migraine without aura

ける心筋梗塞、脳梗塞などの動脈硬化性疾患の発症危険因子となること、欧米の大規模前向き疫学調査<sup>12-14)</sup>の結果により明らかとなった。さらに、ホモシステイン代謝に関係する酵素遺伝子の検討から、先述するように軽度の高ホモシステイン血症と MTHFR 遺伝子多型との関連性が多く報告されている。

#### 片頭痛における MTHFR 遺伝子；われわれの検討結果

片頭痛は、その発症機序において脳血流の変化や血小板機能異常の関与などが報告されていることや、時には一過性あるいは持続的な神経脱落症状を随伴することなどより、脳血管障害との関連性が以前から指摘されている。総説<sup>15)</sup>によると、若年性脳梗塞の10%が片頭痛の既往を持ち、7%が片頭痛発作中に脳梗塞を来し、また、片頭痛患者の4%では頭部CTで異常所見を伴っていたと示されている。しかし、両者に共通した病態はいまだ明らかにはされていない。

われわれは、心・脳血管障害の関連遺伝子と指摘されていた MTHFR 遺伝子多型に着目し、片頭痛との関連性を検討した。その結果、前兆のある片頭痛 (MA) において677TT 多型頻度、677T アリル頻度は、頭痛を有しない健常対照者 (CTL) と比較して有意に高頻度を示すことを報告した (図3)<sup>11)</sup>。その後症例数を蓄積して、MA 52例、前兆のない片頭痛 (MO) 118例、CTL 275例を対象として再検討を行った結果、CTLを基準としたMAのオッズ比は、TT 遺伝子多型 2.94、T アリル 1.85 と共に有意であり、少なくとも日本人において、MTHFR 遺伝子 C677T 多型は、MA の関連遺伝子であることが明らかとなった。

片頭痛と MTHFR との関連については、後述する高ホモシステイン血症による影響が最も有力な考え方であるが、詳細は不明である。片頭痛の発症年齢や発作頻度、MIDAS スコアとの関連性は示されていない<sup>12,13)</sup>。以前から多数の検討により、片頭痛患者では自律神経機能障害を有することが報告されている<sup>16-17)</sup>。MTHFR は、セロトニンやL-ドパ、エピネフリンなどの神経伝達物質の生合成にも関与しており<sup>9)</sup>、遺伝子多型に基づく酵素活性の変化から自律神経機能に影響を及

表2 片頭痛における MTHFR 遺伝子 C677T 多型の検討報告

Author (Year)	Country	Sample Source	Migraine cases	MA			Control			MA Odds (注1)		備考	文献
				cases	T allele	TT genotype	cases	T allele	TT genotype	T allele	TT genotype		
POSITIVE													
Kowa (2000)	Japan	hospital	74	22	0.64	40.9%	261	0.35	9.6%	3.3*	6.59*		11)
Kara (2003)	Turkey	hospital	102	23	0.26	4.3%	136	0.25	1.5%	1.04	3.05	(注2)	18)
Oterino (2004)	Spain	hospital	230	78	0.42	18.0%	204	0.36	13.2%	1.75*	2.34*	(注3)	19)
Lea (2004)	Australia	hospital	268	168	0.40	19%	269	0.33	9%	1.41*	2.54*		20)
		family-based	566	247	0.39	13%					1.88*		
Oterino (2005)	Spain	hospital	329	138	0.406	18.8%	237	0.363	12.2%		3.21*	(注3)	21)
Scher (2006)	Netherlands	population	413	187	0.385	16%	1212	0.315	10%	1.40*	2.05*		12)
NEGATIVE													
Todt (2006)	Germany	pain clinic	656	656	0.33	11.7%	625	0.358	11.8%	0.88	0.87		22)
Kaunisto (2006)	Finland	Twin cohort + population	898	898	0.24	5%	900	0.24	6%	none	0.89		23)

関連のあるとした報告 (POSITIVE) と、ないとした報告 (NEGATIVE) をわけて作成した。

(注1) 原則として、CTL に対する MA の odds 比を示す。有意なものに\*を示す。

(注2) 片頭痛全体および MO は、CTL に対して有意であった。

(注3) MA は、MO に対して有意であったが、CTL とは有意でなかった。

CTL: control

MA: migraine with aura

MO: migraine without aura

ばし、片頭痛の臨床症状を修飾している可能性も考えられ、今後の検討が必要である。

#### 他施設からの報告

われわれの報告に続いて、異なる地域、人種による検討が報告されている。概要を表2に示す。片頭痛、特に前兆を伴う片頭痛との有意な関連性を示す報告<sup>12,13,21)</sup>が多いが、関連を否定する報告も2報<sup>22,23)</sup>ある。Kaunisto らの検討<sup>23)</sup>では、多数例であるが双子研究登録症例が1/3を占めている点は、検討対象としてバイアスとならないのか慎重な対応が必要と思われる。さらに、西欧では二分脊椎の出生予防策として葉酸強制添加政策が施行されており、今後、ホモシステイン、葉酸、ビタミン B<sub>12</sub> も含めた検討が必要と考えられる<sup>24)</sup>。

小児の片頭痛を対象とした報告<sup>25)</sup>では、MA 33例、MO 12例と例数が少なく統計学的に有意差は認められなかったが、677TT 多型との関連性が示唆される傾向であった。

表2に示された報告に基づいて、ごく最近行われたメタ・アナリシス<sup>26)</sup>によると、前兆のある片頭痛において MTHFR 遺伝子 C677T 多型との有意な関連性が認められている。

#### 片頭痛とホモシステイン

片頭痛と MTHFR 遺伝子多型との関連性についての報告に比して、ホモシステインとの関連性についての検討は少ない。われわれは、HPLC-ECD 法を用いて<sup>27)</sup>、MA 35例、MO 56例、年齢を一致させた CTL 71例における血漿総ホモシステイン濃度を検討した。平均血漿濃度は、MA 13.1nmol/ml

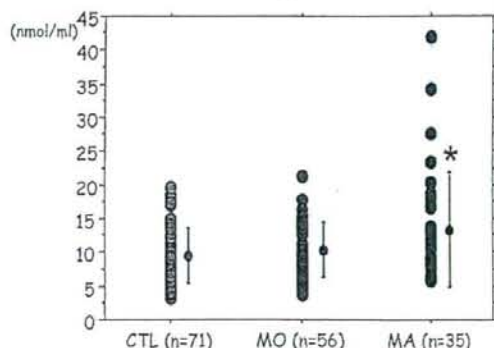


図4 血漿総ホモシステイン濃度<sup>28)</sup>

Bar は mean ± SE を示す

\*: p < 0.01 vs CTL, MA (ANOVA, post hoc)

CTL: control

MA: migraine with aura

MO: migraine without aura

で、CTL 9.5nmol/ml、MO 9.4nmol/ml の両群に比して有意に高値であった (図4)。遺伝子多型に分けた検討においては、MA の TT 多型において、MA の CT 多型を除く他の7群と比して有意に高値であった<sup>28)</sup>。

過去の臨床報告では、Evers 等<sup>29)</sup>は、MA 17例、MO 45例を含む頭痛患者でホモシステイン、ビタミン B<sub>12</sub>、葉酸濃度を測定した。その結果、MA と CTL 18例の間では有意差は認められなかったが、MO と比較して MA は有意にホモシ

テイン濃度が高値であること、ビタミン B<sub>12</sub> 葉酸値に異常はなく、ホモシステイン値と相関関係がなかったと報告している。一方、Schlesinger らは、MA 2 例と MO 4 例の全例でホモシステイン濃度は 10 nmol/ml 以下の正常範囲であり、片頭痛の病態との関連性を否定している<sup>30</sup>。しかし、CTL との比較はなされていない。Hering-Hanit らは、MA 22 例を含む片頭痛患者 78 例と CTL 126 例でホモシステイン値を比較し、その多くが正常範囲内であり、両群間で有意差がなかったと報告している<sup>31</sup>が、MA と MO を分けた検討はなされていない。オランダの住民調査においては、MA と MTHFR 遺伝子 TT 多型との有意な関連性は認められたが、MA とホモシステイン値や葉酸、ビタミン B<sub>12</sub> との関連性は認められなかった<sup>32</sup>。今後、この点に関しては、人種差も念頭に置いた更なる検討が必要と思われる。

一方で、1/3 の症例で片頭痛を伴うとされている家族性の特殊な脳梗塞である“皮質下梗塞と白質脳症を伴う常染色体優性遺伝性脳動脈症”(cerebral autosomal-dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy: CADASIL<sup>33</sup>) 65 家系 127 症例を対象として、原因遺伝子の変異部位や白質病変に関連する脳血管障害危険因子と臨床症状との関連性をみた検討によると、notch3 遺伝子変異部位と臨床症状の間には関連がなかったが、15 μmol/l 以上の高ホモシステイン値を呈した症例では、それ以下の症例に比して有意に片頭痛発作を来しやすいため、また、より早期に片頭痛発作を呈することが報告されている<sup>34</sup>。CADASIL 自体と MTHFR 遺伝子多型との関連性について大変興味もたれるところである。

高ホモシステイン血症の片頭痛に関する病態機序は不明であるが、Storer ら<sup>35</sup>は、ネコ片頭痛モデルにおいてホモシステインの類似物質であるホモシステイン酸が痛み侵襲を惹起し、エルゴタミンやトリプタン系薬物である 5HT<sub>1B/1D</sub> agonist により抑制されることを報告しており、片頭痛における神経細胞の興奮性との関与が示唆される。

随伴陰性変動 (contingent negative variation: CNV) を用いた臨床研究によると、677TT 多型の片頭痛患者では、他の多型に比して早期 CNV 振幅の慣れ (habituation) の有意な減少が認められ、慣れと血漿ホモシステイン濃度との間に正の相関関係が認められたことより、片頭痛患者において高ホモシステイン血症が神経性の要因となりうるということが示唆されている<sup>36</sup>。

また、前兆が重複した稀な 2 症例において、35 μmol/l, 24 μmol/l の高ホモシステイン血症をともに呈していたことから、前兆との関連性を指摘する報告<sup>37</sup>もある。高ホモシステイン血症と前兆との関連を見た詳細な報告は少なく、さらなる症例の蓄積が期待される。

#### 今後の課題

現在、前兆のある片頭痛と MTHFR677TT 多型との関連性は有力と成ってきたが、頭痛の病態との関連性はいまだ明らかでない。MTHFR 自体の高ホモシステイン血症を来すこと以外の作用や、片頭痛を違う角度の切り口で分類して評価していくことも解明の一助になるかもしれない。

一般に高ホモシステイン血症への対策とされている葉酸補充療法が、片頭痛患者に対して有効か否かに関する検討はなされていない。その際に、葉酸のサプリメントと食事療法で効果が異なるのかも注意を要すると思われる。

先にも述べたが、一部の国や地域では葉酸強制添加政策が施行されており、葉酸強制添加後の片頭痛に関する疫学データの変化にも目を向けておく必要がある。

近年、片頭痛と脳梗塞との有意な関連性を指摘する報告も増えており、両者の共通した遺伝的背景因子としても注目される可能性があるものと考えられる<sup>38</sup>。

#### おわりに

MTHFR 遺伝子 C677T 多型は、片頭痛の単一原因遺伝子ではなく、多因子遺伝病としての関連遺伝子のひとつに過ぎない。しかし、現在、世界の多数の国から報告が蓄積され、メタ・アナリシスにおいても有意な関連性が示されている。MTHFR 遺伝子多型や高ホモシステイン血症が、片頭痛の病態機序にどのように関与するのかを解明することは、新たな治療法や予防法を検討するうえで重要な課題と考える。

#### 文 献

- 1) Russell MB, Iselius L, Olesen J: Migraine without aura and migraine with aura are inherited disorders. *Cephalalgia* 16: 305-309, 1996.
- 2) 古和久典, 安井建一, 中曾一裕, ほか: 頭痛発症に関与する遺伝子 (2) MTHFR 遺伝子. *神経内科* 66: 252-257, 2007.
- 3) Rosenblatt DS: Inherited disorders of folate transport and metabolism. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*. 7th ed. McGraw-Hill, Inc., New York, 1995 p3111-3128.
- 4) Frosst P, Blom HJ, Milos R, et al: A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nature Genetics* 10: 111-113, 1995.
- 5) Yasui K, Kowa H, Nakaso K, et al: Plasma homocysteine and MTHFR C677T genotype in levodopa-treated patients with PD. *Neurology* 55: 437-440, 2000.
- 6) Guenther BD, Sheppard CA, Tran P, et al: The structure and properties of methylenetetrahydrofolate reductase from *Escherichia coli* suggest how folate ameliorates human hyperhomocysteinemia. *Nature Structural Biology* 6: 359-365, 1999.
- 7) Stampfer MJ, Malinow MR, Willett WC, et al: A prospective study of plasma homocyst (e) ine and risk of myocardial infarction in US physicians. *JAMA* 268: 877-881, 1992.
- 8) Verhoef P, Hennekens CH, Malinow MR, et al: A prospective study of plasma homocyst (e) ine and risk of ischemic stroke. *Stroke* 25: 1924-1930, 1994.
- 9) Bots ML, Launer LJ, Lindemans J, et al: Homocysteine



- and short-term risk of myocardial infarction and stroke in the elderly: the Rotterdam Study. *Archives of Internal Medicine* 159: 38-44, 1999.
- 10) Welch KMA, Tatemichi TK, Mohr JP: Migraine and stroke. In: Barnett HJM, Mohr JP, Stein BM, Yatsu FM, eds. *Stroke, pathophysiology, diagnosis, and management*. 3rd ed. Churchill Livingstone, Philadelphia, 1998 p845-867.
  - 11) Kowa H, Yasui K, Takeshima T, et al.: The homozygous C677T mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene is a genetic risk factor for migraine. *American Journal of Medical Genetics* 96: 762-764, 2000.
  - 12) Scher AI, Terwindt GM, Verschuren WM, et al.: Migraine and MTHFR C677T genotype in a population-based sample. *Annals of Neurology* 59: 372-375, 2006.
  - 13) de Tommaso M, Difruscolo O, Sardaro M, et al.: Influence of MTHFR genotype on contingent negative variation and MRI abnormalities in migraine. *Headache* 47: 253-265, 2007.
  - 14) Takeshima T, Takao Y, Takahashi K: Pupillary sympathetic hypofunction and asymmetry in muscle contraction headache and migraine. *Cephalalgia* 7: 257-262, 1987.
  - 15) Takeshima T, Takao Y, Urakami K, et al.: Muscle contraction headache and migraine. Platelet activation and plasma norepinephrine during the cold pressor test. *Cephalalgia* 9: 7-13, 1989.
  - 16) Takeshima T, Mishima T, Tabata M, et al.: Acrophase amplitude of ambulatory blood pressure decreases in migraineurs. *Headache* 37: 577-582, 1997.
  - 17) Tabata M, Takeshima T, Burioka N, et al.: Cosinor analysis of heart rate variability in ambulatory migraineurs. *Headache* 40: 457-463, 2000.
  - 18) Kara I, Sazci A, Ergul E, et al.: Association of the C677T and A1298C polymorphisms in the 5, 10 methylenetetrahydrofolate reductase gene in patients with migraine risk. *Brain Research* 111: 84-90, 2003.
  - 19) Oterino A, Valle N, Bravo Y, et al.: MTHFR T677 homozygosity influences the presence of aura in migraineurs. *Cephalalgia* 24: 491-494, 2004.
  - 20) Lea RA, Ovcacic M, Sundholm J, et al.: The methylenetetrahydrofolate reductase gene variant C677T influences susceptibility to migraine with aura. *BMC medicine* 2: 3, 2004.
  - 21) Oterino A, Valle N, Pascual J, et al.: Thymidylate synthase promoter tandem repeat and MTHFD1 R653Q polymorphisms modulate the risk for migraine conferred by the MTHFR T677 allele. *Brain Research* 139: 163-168, 2005.
  - 22) Todt U, Freudenberg J, Goebel I, et al.: MTHFR C677T polymorphism and migraine with aura. *Annals of Neurology* 60: 621-622, 2006.
  - 23) Kaunisto MA, Kallela M, Hamalainen E, et al.: Testing of variants of the MTHFR and ESRI genes in 1798 Finnish individuals fails to confirm the association with migraine with aura. *Cephalalgia* 26: 1462-1472, 2006.
  - 24) Scher AI, Terwindt GM, Verschuren WM, et al.: Reply. *Annals of Neurology* 60: 622-623, 2006.
  - 25) Bottini F, Celle ME, Calevo MG, et al.: Metabolic and genetic risk factors for migraine in children. *Cephalalgia* 26: 731-737, 2006.
  - 26) Rubino E, Ferrero M, Rainero I, et al.: Association of the C677T polymorphism in the MTHFR gene with migraine: a meta-analysis. *Cephalalgia*, 2007.
  - 27) 安井建一, 古和久典, 楠見公義, ほか: 片頭痛患者における血漿ホモシステイン濃度の検討. *日本頭痛学会誌* 27: 21-23, 2000.
  - 28) Kowa H, Yasui K, Fusayasu E, et al.: The C677T mutation of methylenetetrahydrofolate reductase gene and plasma homocysteine levels in Japanese patients with migraine (abs.). *Cephalalgia* 25: 867, 2005.
  - 29) Evers S, Koch HG, Husstedt I-W. Plasma homocysteine levels in primary headache. In: Olesen J, Edvinsson L, eds. *Headache pathogenesis. Monoamines, neuropeptides, purines, and nitric oxide*. Vol. *Frontiers in Headache Research series*. Lippincott-Raven, Philadelphia, 1997: p215-218.
  - 30) Schlesinger I, Hering R: Homocysteine levels in migraine patients. *Cephalalgia* 17: 46, 1997.
  - 31) Hering-Hanit R, Gadoth N, Yavetz A, et al.: Is blood homocysteine elevated in migraine? *Headache* 41: 779-781, 2001.
  - 32) 古和久典, 足立芳樹, 土井浩二, ほか: CADASIL. *神経内科* 65: 450-459, 2006.
  - 33) Singhal S, Bevan S, Barrick T, et al.: The influence of genetic and cardiovascular risk factors on the CADASIL phenotype. *Brain* 127: 2031-2038, 2004.
  - 34) Storer RJ, Goadsby PJ: Microiontophoretic application of serotonin (5HT) 1B/1D agonists inhibits trigeminal cell firing in the cat. *Brain* 120 (Pt 12): 2171-2177, 1997.
  - 35) Cupini LM, Stipa E: Migraine aura status and hyperhomocysteinaemia. *Cephalalgia* 27: 847-849, 2007.
  - 36) 古和久典, 竹島多賀夫, 中島健二: 片頭痛と脳梗塞—comorbidityの観点から. *内科専門医会誌* 18: 318-322, 2006.

## Brief Communication

### Increased Plasma Matrix Metalloproteinase-9 Levels in Migraineurs

Keiko Imamura, MD, PhD; Takao Takeshima, MD, PhD; Emi Fusayasu, MD, PhD;  
Kenji Nakashima, MD, PhD

**Background and Objective.**—Cortical spreading depression and neurogenic inflammation have been hypothesized to be key steps in the development of migraine headache. Recent studies have highlighted matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) in cortical spreading depression, neurogenic inflammation, and cerebral ischemia. To seek their possible association, we investigated plasma MMP-9 levels in migraineurs during headache-free periods.

**Methods.**—Plasma MMP-9 levels in 84 migraine subjects and 61 controls were determined by enzyme-linked immunosorbent assay. In addition, 23 patients with tension type headache were included in the study as comparative subjects.

**Results.**—The MMP-9 levels in migraineurs ( $42.5 \pm 4.6$  ng/mL, mean  $\pm$  SE) were significantly higher than those in controls ( $25.4 \pm 2.7$  ng/mL,  $P < .005$ ). Those levels in tension type headache subjects ( $24.6 \pm 4.8$  ng/mL) did not differ from those in controls. There was no significant difference between subjects having migraine with aura and those without aura. The MMP-9 levels did not correlate with age, duration of illness, frequency of migraine attack, duration of headache attack, or medication for headache. Mean plasma MMP-9 levels were the highest in subjects from whom blood samples were taken 2-4 days after their latest attack.

**Conclusions.**—The degradation of extracellular matrix showing the increase of MMP-9 in migraineurs may be associated with an abnormality in their blood vessel permeability. MMP-9 plays some role in migraine pathophysiology. Further studies of MMPs are necessary to elucidate their role.

**Key words:** cortical spreading depression, gelatinase, ischemia, neurogenic inflammation, migraine

**Abbreviations:** BBB blood-brain barrier, CSD cortical spreading depression, ECM extracellular matrix, IL-1 $\beta$  interleukin-1 $\beta$ , MMP matrix metalloproteinase, MMP-9 matrix metalloproteinase-9, TNF- $\alpha$  tumor necrosis factor- $\alpha$

(*Headache* 2007;48:135-139)

#### INTRODUCTION

Migraine headache, a highly prevalent and disabling disease, is characterized by the peripheral and

central sensitization of pain perceptive systems. Although the pathophysiology is not fully understood, cortical spreading depression (CSD) and neurogenic inflammation have been hypothesized to be major steps in the development of migraine headache.<sup>1,2</sup> Recent studies suggests possible association of migraine and ischemic brain lesions, especially posterior lobes and cerebellum.<sup>3</sup> The matrix metalloproteinases (MMPs) are a family of enzymes with more than 20 members identified to date that are all extracellular endopeptidases requiring Zn<sup>2+</sup>. The major

From the Department of Neurology, Institute of Neurological Sciences, Faculty of Medicine, Tottori University, Yonago, Japan.

Address all correspondence to Dr. Takao Takeshima, Associate Professor of Neurology, Department of Neurology, Institute of Neurological Sciences, Faculty of Medicine, Tottori University, 36-1 Nishicho, Yonago, 683-8504, Japan.

Accepted for publication June 19, 2007.

*Conflict of Interest:* None.

targets are the proteins of the extracellular matrix (ECM).<sup>4</sup> The role for MMPs has also been suggested in the pathogenesis of both acute and chronic neurological disorders such as stroke, Alzheimer's disease, HIV-associated dementia, and multiple sclerosis.<sup>5-7</sup>

Matrix metalloproteinase-9 (MMP-9 or gelatinase B) is a relevant member of MMPs and has a broad range of specific substrates such as gelatine, collagens, and fibronectin.<sup>6</sup> Significant pathological roles of MMP-9 have been reported in cerebral ischemia and neural inflammation.<sup>8-10</sup>

Cortical spreading depression is a propagating wave of neuronal and glial depolarization in cerebral cortex and has been implicated in disorders of neurovascular regulation such as stroke, head trauma, and migraine. Gursoy-Ozdemir et al<sup>11</sup> demonstrated CSD increased the cortical tissue MMP-9 level, in animal models and altered the levels of inflammatory cytokines. We have reported alteration of plasma transforming growth factor- $\beta$ , a relevant cytokine, in interictal migrainures.<sup>12</sup> Alterations of plasma interleukins have also been reported in migrainures.<sup>13</sup>

Changes of plasma MMPs in patients have been reported in some neurological disorders such as ischemic stroke<sup>14</sup> and multiple sclerosis.<sup>15</sup> However, there has been no study concerning plasma MMPs in migraine subjects. To explore the possible association of the MMPs in migraine, we measured plasma MMP-9 in migrainures during the headache-free periods.

## SUBJECTS AND METHODS

Eighty-four volunteer migrainures, who visited a headache clinic at Tottori University Hospital, participated in this study. All subjects were given a general physical and neurological examination. The diagnosis of headache type was established according to the diagnostic criteria of the International Classification of Headache Disorders II.<sup>16</sup> Twenty-one subjects suffered from migraine with aura and 63 from migraine without aura. All headache sufferers were generally normal except for their headaches. We recruited 61 healthy subjects without headache as controls. They comprised 58 volunteers recruited from hospital workers, 2 students of the University, and 1 family member of a patient, who were generally normal and

Table 1.—Mean Age and Sex Ratio of the Subjects

	n	Age (years)	Male:female
Control	61	32.5 $\pm$ 11.1	18:43
Migraine	84	33.6 $\pm$ 13.0	23:61
Migraine with aura	21	27.0 $\pm$ 8.2	7:15
Migraine without aura	63	36.0 $\pm$ 13.7	16:46
Tension-type headache	23	51.3 $\pm$ 18.2	4:19

Mean  $\pm$  SD.

received no medication. In addition, 23 patients with tension type headache were included in the study as comparative subjects. Mean age and male to female ratio of the subjects are shown in Table 1. Clinical characteristics and the current medication of migraine subjects are summarized in Table 2. All participants gave their informed consent following their full understanding of the nature and aim of the study. We obtained venous blood samples from each participant during the headache-free period, at least 2 days after the last headache attack. Sample blood was cooled immediately in EDTA-containing tubes. We obtained plasma by centrifugal separation. The plasma samples were frozen and stored at  $-30^{\circ}\text{C}$  until assay. MMP-9 levels in plasma were determined by enzyme-linked immunosorbent assay (MMP-9, human, Biotrak ELISA System; Amersham Bioscience, Piscataway, NJ, USA). Statistical analyses were performed using SPSS software version 11.01-J (Tokyo, Japan). The data were evaluated using the non-parametric Kruskal-Wallis test followed by Mann-Whitney *U*-test. The Spearman coefficient was used to evaluate correlations between variables.

## RESULTS

The plasma MMP-9 levels in controls, migraine, and tension type headache subjects are presented in Table 3. The MMP-9 levels in migrainures were significantly higher than those in controls. Those levels in tension type headache subjects did not differ from those in controls. There was no significant difference between MMP-9 levels in migraine subjects with aura and those having migraine without aura. The MMP-9

Table 2.—Headache Characteristics and Medication of Migraine Subjects

	Migraine with aura (n = 22)	Migraine without aura (n = 62)	Total (n = 84)
Age of onset (years)	17.1 ± 8.7	23.0 ± 8.6	21.5 ± 9.0
Duration of illness (years)	9.2 ± 8.6	12.9 ± 10.7	12.0 ± 10.3
Frequency of headache (per month)	3.4 ± 2.8	4.5 ± 4.1	4.2 ± 3.8
Duration of headache (hours)	17.8 ± 11.3	23.6 ± 15.9	22.1 ± 15.0
Medication for headache (%)			
No acute medication	10 (45.5)	11 (17.7)	21 (25.0)
Triptan	7 (31.8)	30 (48.4)	37 (44.0)
NSAID	6 (27.3)	26 (41.9)	32 (38.1)
No prophylactics	15 (68.2)	33 (53.2)	48 (57.1)
Verapamil	0 (0)	6 (9.7)	6 (7.1)
Amitriptyline	3 (13.6)	10 (16.1)	13 (15.5)
Valproate	1 (4.5)	2 (3.2)	3 (3.6)

Mean ± SD.

NSAID = non-steroidal anti-inflammatory drug.

levels did not correlate with age, duration of illness, frequency of migraine attack, duration of headache attack, or medication for headache. Mean plasma MMP-9 levels were the highest in subjects from whom blood samples were taken 2-4 days after their latest attack (Figure).

## COMMENTS

This study demonstrated that plasma MMP-9 levels were increased in migraineurs during the headache-free periods. Although there might be some possibility that high MMP-9 is a preparative state for

a migraine attack or that migraine attacks cause an increase of MMP-9, the elevation of plasma MMP-9 levels seemed to be a consequence of migraine attack, because they were associated with the period from the latest headache attack in our findings.

Matrix metalloproteinases have been shown to contribute to: (1) the breakdown of the blood-brain barrier (BBB); (2) cytokine production and the propagation of an inflammatory response including

Table 3.—Plasma MMP-9 Levels

	n	MMP-9 (ng/mL)
Control	61	25.4 ± 2.7
Migraine	84	42.5 ± 4.6*
Migraine with aura	21	34.9 ± 6.0**
Migraine without aura	63	45.1 ± 5.8**
Tension-type headache	23	24.6 ± 4.8

\* $P < .005$  compared with controls, \*\* $P < .05$  compared with controls.

Mean ± SE; Kruskal-Wallis test,  $P < .01$ ; Mann-Whitney *U*-test.

MMP-9 = matrix metalloproteinase-9.

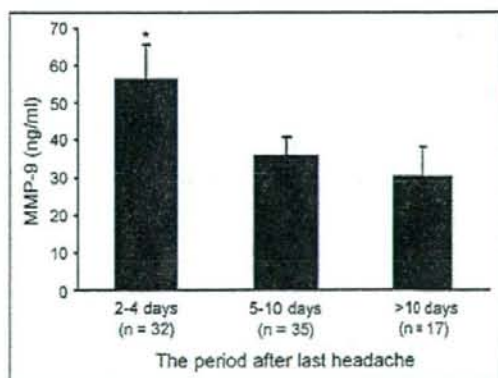


Figure.—Plasma MMP-9 levels in migraineurs and their latest headache attack. Plasma MMP-9 levels in migraineurs whose latest headache attack occurred 2-4 days previously were significantly higher than in other groups. Bars represent mean ± SE. Mann-Whitney *U*-test, \* $P < .05$  compared with other 2 groups. MMP-9 = matrix metalloproteinase-9.